

REC'D 18 OCT 1999

WIPO PCT

09/763712
PCT/JP 99/04552

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

25.08.99

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

1998年 8月24日

出 願 番 号
Application Number:

平成10年特許願第237611号

出 願 人
Applicant(s):

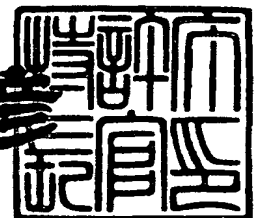
扶桑薬品工業株式会社

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年10月 1日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特平11-3065797

【書類名】 特許願

【整理番号】 980824P-03

【提出日】 平成10年 8月24日

【あて先】 特許庁長官 伊佐山 建志 殿

【国際特許分類】 C12N 15/12
C07K 14/47
C07K 14/435

【発明の名称】 新規コレクチン

【請求項の数】 19

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市大池1丁目9-20

 【氏名】 若宮 伸隆

【特許出願人】

 【識別番号】 000238201

 【氏名又は名称】 扶桑薬品工業株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100065868

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 角田 嘉宏

 【電話番号】 078-321-8822

【選任した代理人】

 【識別番号】 100088960

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 高石 ▲さとり▼

 【電話番号】 078-321-8822

【選任した代理人】

 【識別番号】 100106242

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 古川 安航

【電話番号】 078-321-8822

【選任した代理人】

【識別番号】 100107940

【弁理士】

【氏名又は名称】 岡 憲吾

【電話番号】 078-321-8822

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 006220

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705390

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規コレクチン

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu-Met-Lys-Leu-Val-Asp-Ser-Lys-His-Gly-Gln-Leu-Ile-Lys-Asn-Phe-Thr-Ile-Leu-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Thr-Gly-Asn-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Arg-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Pro-Gly-Glu-Arg-Gly-Gly-Lys-Gly-Ser-Lys-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Lys-Gly-Ser-Arg-Gly-Ser-Pro-Gly-Lys-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Asp-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Lys-Glu-Gly-Leu-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Phe-Gln-Gly-Leu-Gln-Gly-Thr-Val-Gly-Glu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Pro-Gly-Leu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Met-Pro-Gly-Pro-Lys-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Val-Val-Pro-Leu-Ala-Leu-Gln-Asn-Glu-Pro-Thr-Pro-Ala-Pro-Glu-Asp-Asn-Gly-Cys-Pro-Pro-His-Trp-Lys-Asn-Phe-Thr-Asp-Lys-Cys-Tyr-Tyr-Phe-Ser-Val-Glu-Lys-Glu-Ile-Phe-Glu-Asp-Ala-Lys-Leu-Phe-Cys-Glu-Asp-Lys-Ser-Ser-His-Leu-Val-Phe-Ile-Asn-Thr-Arg-Glu-Glu-Gln-Gln-Trp-Ile-Lys-Lys-Gln-Met-Val-Gly-Arg-Glu-Ser-His-Trp-Ile-Gly-Leu-Thr-Asp-Ser-Glu-Arg-Glu-Asn-Glu-Trp-Lys-Trp-Leu-Asp-Gly-Thr-Ser-Pro-Asp-Tyr-Lys-Asn-Trp-Lys-Ala-Gly-Gln-Pro-Asp-Asn-Trp-Gly-His-Gly-His-Gly-Pro-Gly-Glu-Asp-Cys-Ala-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ala-Gly-Gln-Trp-Asn-Asp-Phe-Gln-Cys-Glu-Asp-Val-Asn-Asn-Phe-Ile-Cys-Glu-Lys-Asp-Arg-Glu-Thr-Val-Leu-Ser-Ser-Ala-Leu (配列番号：2、第206～547位)

からなるタンパク質をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項2】 以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Lys-Leu-Val-Asp-Ser-Lys-His-Gly-Gln-Leu-Ile-Lys-Asn-Phe-Thr-

Ile-Leu-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Thr-Gly-Asn-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Arg-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Pro-Gly-Glu-Arg-Gly-Gly-Lys-Gly-Ser-Lys-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Lys-Gly-Ser-Arg-Gly-Ser-Pro-Gly-Lys-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Asp-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Lys-Glu-Gly-Leu-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Phe-Gln-Gly-Leu-Gln-Gly-Thr-Val-Gly-Glu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Pro-Gly-Leu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Met-Pro-Gly-Pro-Lys-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Val-Val-Pro-Leu-Ala-Leu-Gln-Asn-Glu-Pro-Thr-Pro-Ala-Pro-Glu-Asp-Asn-Gly-Cys-Pro-Pro-His-Trp-Lys-Asn-Phe-Thr-Asp-Lys-Cys-Tyr-Tyr-Phe-Ser-Val-Glu-Lys-Glu-Ile-Phe-Glu-Asp-Ala-Lys-Leu-Phe-Cys-Glu-Asp-Lys-Ser-Ser-His-Leu-Val-Phe-Ile-Asn-Thr-Arg-Glu-Glu-Gln-Gln-Trp-Ile-Lys-Lys-Gln-Met-Val-Gly-Arg-Glu-Ser-His-Trp-Ile-Gly-Leu-Thr-Asp-Ser-Glu-Arg-Glu-Asn-Glu-Trp-Lys-Trp-Leu-Asp-Gly-Thr-Ser-Pro-Asp-Tyr-Lys-Asn-Trp-Lys-Ala-Gly-Gln-Pro-Asp-Asn-Trp-Gly-His-Gly-His-Gly-Pro-Gly-Glu-Asp-Cys-Ala-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ala-Gly-Gln-Trp-Asn-Asp-Phe-Gln-Cys-Glu-Asp-Val-Asn-Asn-Phe-Ile-Cys-Glu-Lys-Asp-Arg-Glu-Thr-Val-Leu-Ser-Ser-Ala-Leu (配列番号：2、第229～547位)

からなるタンパク質をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項3】 前記タンパク質が、第一メチオニン残基（配列番号：2、第229位）の上流に以下のアミノ酸配列：

Met-Glu-Glu（配列番号：2、第226～228位）または

Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu（配列番号：2、第211～228位）

をさらに含む請求項2記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】 前記タンパク質が、第一メチオニン残基（配列番号：2、第229位）の上流に以下のアミノ酸配列：

Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-
 Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-
 Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-
 Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-
 Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-
 Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-
 Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-
 Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号 :
 2、第102~228位)、

Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-Ile-Thr-
 Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-
 His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-
 Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-
 Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-
 Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-
 Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-
 Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-
 Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号 : 2、第91~228位)、

Met-Asn-Leu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Thr-Gln-Val-Gln-Gln-Arg-Asn-Leu-
 Ile-Thr-Asn-Leu-Gln-Arg-Ser-Val-Asp-Asp-Thr-Ser-Gln-Ala-Ile-Gln-
 Arg-Ile-Lys-Asn-Asp-Phe-Gln-Asn-Leu-Gln-Gln-Val-Phe-Leu-Gln-Ala-
 Lys-Lys-Asp-Thr-Asp-Trp-Leu-Lys-Glu-Lys-Val-Gln-Ser-Leu-Gln-Thr-
 Leu-Ala-Ala-Asn-Asn-Ser-Ala-Leu-Ala-Lys-Ala-Asn-Asn-Asp-Thr-Leu-
 Glu-Asp-Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-
 Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-
 Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-
 Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-
 Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-
 Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-

Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号：2、第9～228位)、または

Met-Tyr-Ser-His-Asn-Val-Val-Ile-Met-Asn-Leu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Thr-Gln-Val-Gln-Gln-Arg-Asn-Leu-Ile-Thr-Asn-Leu-Gln-Arg-Ser-Val-Asp-Asp-Thr-Ser-Gln-Ala-Ile-Gln-Arg-Ile-Lys-Asn-Asp-Phe-Gln-Asn-Leu-Gln-Gln-Val-Phe-Leu-Gln-Ala-Lys-Lys-Asp-Thr-Asp-Trp-Leu-Lys-Glu-Lys-Val-Gln-Ser-Leu-Gln-Thr-Leu-Ala-Ala-Asn-Asn-Ser-Ala-Leu-Ala-Lys-Ala-Asn-Asn-Asp-Thr-Leu-Glu-Asp-Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号：2、第1～228位)

をさらに含む請求項2記載のポリヌクレオチド。

【請求項5】 以下の塩基配列すなわち、

atgcaacaag atttgatgag gtcgaggtta gacactgaag tagccaactt atcagtgatt
atggaagaaa tgaagctagt agactccaag catggtcagc tcatcaagaa tttacaata
ctacaaggct caccgggccc caggggtcca agaggtgaca gaggatccca gggaccccct
ggcccaactg gcaacaaggg acagaaagga gagaaggggg agcctggacc acctggccct
gcgggtgaga gaggcccaat tggaccagct ggtcccccg gagagcgtgg cggcaaagga
tctaaaggct ccagggccc caaaggctcc cgtgggtccc ctgggaagcc cggccctcag
ggccccagt gggacccagg cccccgggc ccaccaggca aagagggact ccccggccct
cagggccctc ctggcttcca gggacttcag ggcaccgttg gggagcctgg ggtgcctgga

cctcggggac tgccaggcctt gcctggggta ccaggcatgc caggcccca gggcccccc
 ggccctcctg gcccatcagg agcgggtgtg cccctggccc tgcagaatga gccaaacccg
 gcaccggagg acaatggctg cccgcctcac tggaagaact tcacagacaa atgctactat
 ttttcagttg agaaagaaat ttttgaggat gcaaagcttt tctgtgaaga caagtcttca
 catcttgttt tcataaacac tagagaggaa cagcaatgga taaaaaaca gatggtaggg
 agagagagcc actggatcgg cctcacagac tcagagcgtg aaaatgaatg gaagtggctg
 gatgggacat ctccagacta caaaaattgg aaagctggac agccggataa ctggggtcac
 ggccatgggc caggagaaga ctgtgtgtgg ttgatttatg ctgggcagtg gaacgatttc
 caatgtgaag acgtcaataa cttcatttgc gaaaaagaca gggagacagt actgtcatct
 gcatta (配列番号 : 1、第670～1695位)

で示される塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項6】 以下の塩基配列すなわち、

atgaagctag tagactccaa gcatgggtcag ctcatcaaga attttacaat actacaaggt
 ccaccgggcc ccaggggtcc aagaggtgac agaggatccc agggaccccc tggcccaact
 ggcaacaagg gacagaaagg agagaagggg gagcctggac cacctggccc tgcgggtgag
 agaggcccaa ttggaccagc tgggtccccc ggagagcgtg gcggcaaagg atctaaaggc
 tcccagggcc ccaaaggctc ccgtgggttc cctgggaagc ccggccctca gggccccagt
 ggggaccag gcccccggg cccaccaggc aaagaggagc tccccggccc tcagggcctt
 cctggcttcc agggacttca gggcacctgt ggggagcctg gggtgccttg acctcgggga
 ctgccaggct tgccctgggt accaggcatg ccaggcccca agggcccccc cggccctcct
 ggcccatcag gagcgggtgt gcccctggcc ctgcagaatg agccaacccc ggcaccggag
 gacaatggct gccgcctca ctggaagaac ttcacagaca aatgctacta ttttcagtt
 gagaaagaaa tttttgagga tgcaaagctt ttctgtgaag acaagtcttc acatcttggt
 ttcataaaca ctagagagga acagcaatgg ataaaaaac agatggtagg gagagagagc
 cactggatcg gcctcacaga ctgagagcgt gaaaatgaat ggaagtggct ggatgggaca
 tctccagact acaaaaattg gaaagctgga cagccggata actgggggtca tggccatggg
 ccaggagaag actgtgctgg gttgatttat gctgggcagt ggaacgattt ccaatgtgaa
 gagtcaata acttcatttg cgaaaaagac agggagacag tactgtcatc tgcatta

(配列番号 : 1、第739～1695位)

で示される塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 7】 前記塩基配列の5'上流に以下の配列すなわち、
atggaagaa (配列番号：1、第730～738位) または
atgaggtcga ggtagacac tgaagtagcc aacttatcag tgattatgga agaa (配列番号：
1、第685～738位)

で示される塩基配列をさらに含む請求項 6 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 8】 前記塩基配列の5'上流に以下の配列すなわち、
atggagaaca tcaccactat ctctcaagcc aacgagcaga acctgaaaga cctgcaggac
ttacacaaag atgcagagaa tagaacagcc atcaagtcca accaactgga ggaacgcttc
cagctctttg agacggatat tgtgaacatc attagcaata tcagttacac agcccaccac
ctgcggacgc tgaccagcaa tctaaatgaa gtcaggacca ctgcacaga tacccttacc
aaacacacag atgatctgac ctcttgaat aataccctgg ccaacatccg tttggattct
gtttctctca ggatgcaaca agatttgatg aggtcgaggt tagacactga agtagccaac
ttatcagtga ttatggaaga a (配列番号：1、第358～738位)、
atgaacagcc agctcaactc attcacaggt cagatggaga acatcaccac tatctctcaa
gccaacgagc agaacctgaa agacctgcag gacttacaca aagatgcaga gaatagaaca
gccatcaagt tcaaccaact ggaggaacgc ttccagctct ttgagacgga tatttgaac
atcattagca atatcagtta cacagcccac cacctgcgga cgctgaccag caatctaaat
gaagtcagga ccacttgac agataccctt accaaacaca cagatgatct gacctccttg
aataataccc tggccaacat ccgtttggat tctgtttctc tcaggatgca acaagatttg
atgaggtcga ggtagacac tgaagtagcc aacttatcag tgattatgga agaa (配列番号：
1、第325～738位)、
atgaacctca acaacctgaa cctgaccag gtgcagcaga ggaacctcat cacgaatctg
cagcggcttg tggatgacac aagccaggct atccagcgaa tcaagaacga ctttcaaaat
ctgcagcagg tttttcttca agccaagaag gacacggatt ggctgaagga gaaagtgcag
agcttgacga cgctggctgc caacaactct gcgttggcca aagccaacaa cgacaccctg
gaggatatga acagccagct caactcattc acaggtcaga tggagaacat caccactatc
tctcaagcca acgagcagaa cctgaaagac ctgcaggact tacacaaaga tgcagagaat
agaacagcca tcaagttcaa ccaactggag gaacgcttcc agctctttga gacggatat

gtgaacatca ttagcaatat cagttacaca gccaccacc tgcggacgct gaccagcaat
ctaaatgaag tcaggaccac ttgcacagat acccttacca aacacacaga tgatctgacc
tccttgaata ataccctggc caacatccgt ttggattctg tttctctcag gatgcaacaa
gatttgatga ggtcagaggtt agacactgaa gtagccaact tatcagtgat tatggaagaa
(配列番号：1、第79～738位)、

atgtattctc ataatgtggt catcatgaac ctcaacaacc tgaacctgac ccaggtgcag
cagaggaacc tcatcacgaa tctgcagcgg tctgtggatg acacaagcca ggctatccag
cgaatcaaga acgactttca aaatctgcag caggtttttc ttcaagccaa gaaggacag
gattggctga aggagaaagt gcagagcttg cagacgctgg ctgccaacaa ctctgcgttg
gccaaagcca acaacgacac cctggaggat atgaacagcc agctcaactc attcacaggt
cagatggaga acatcaccac tatctctcaa gccaacgagc agaacctgaa agacctgcag
gacttacaca aagatgcaga gaatagaaca gccatcaagt tcaaccaact ggaggaacgc
ttccagctct ttgagacgga tattgtgaac atcattagca atatcagtta cacagcccac
cacctgcgga cgctgaccag caatctaaat gaagtcagga ccacttgcac agataccctt
accaaacaca cagatgatct gacctccttg aataataccc tggccaacat ccgtttggat
tctgtttctc tcaggatgca acaagatttg atgaggtcga ggtagacac tgaagtagcc
aacttatcag tgattatgga agaa (配列番号：1、第55～738位) または、

gtcacgaatc tgcagcaaga taccagcgtg ctccagggca atctgcagaa ccaaattgtat
tctcataatg tggatcatcat gaacctcaac aacctgaacc tgaccaggt gcagcagagg
aacctcatca cgaatctgca gcggtctgtg gatgacacaa gccaggctat ccagcgaatc
aagaacgact ttcaaaatct gcagcaggtt tttcttcaag ccaagaagga cacggattgg
ctgaaggaga aagtgcagag ctgacagacg ctggctgcca acaactctgc gttggccaaa
gccaaacaac acaccctgga ggatatgaac agccagctca actcattcac aggtcagatg
gagaacatca ccactatctc tcaagccaac gagcagaacc tgaaagacct gcaggactta
cacaagatg cagagaatag aacagccatc aagttcaacc aactggagga acgcttccag
ctctttgaga cggatattgt gaacatcatt agcaatatca gttacacagc ccaccacctg
cggacgctga ccagcaatct aaatgaagtc aggaccactt gcacagatac ccttaccaaa
cacacagatg atctgacctc cttgaataat accctggcca acatccgttt ggattctgtt
tctctcagga tgcaacaaga ttgatgagg tcgaggttag aactgaagt agccaactta

tcagtgatta tggaagaa (配列番号: 1、第1~738位)

で示される塩基配列をさらに含む請求項6記載のポリヌクレオチド。

【請求項9】 請求項5乃至8のいずれかに記載のポリヌクレオチドの3'下流に以下の配列すなわち、

taacggactg tgatgggatc acatgagcaa attttcagct ctcaaaggca aaggacactc
ctttctaatt gcatcacctt ctcatcagat tgaaaaaaaa aaaagcactg aaaaccaatt
actgaaaaaaaa aattgacagc tagtgTTTTT taccatccgt cattacccaa agacttggga
actaaaatgt tccccagggt gatatgctga ttttcattgt gcacatggac tgaatcacat
agattctcct ccgtcagtaa ccgtgctgatt atacaaatta tgtcttccaa agtatggaac
actccaatca gaaaaagggt atcatcccg (配列番号: 1、1696~2024位)

で示される塩基配列をさらに含むポリヌクレオチド。

【請求項10】 以下の塩基配列すなわち、

caatctgatgagaaggatgatg (配列番号: 4) 及び
acgaggggctggatgggacat (配列番号: 5)

で示される塩基配列を有するプライマーを用いて行ったPCR反応の増幅産物であるプローブと、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができ、且つコレクチンタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項11】 請求項1乃至10のいずれかに記載のポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズでき、該ポリヌクレオチドによってコードされるタンパク質が、(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD)、及び(2) コラーゲン様領域を含む、コレクチンタンパク質であるポリヌクレオチド。

【請求項12】 前記ポリヌクレオチドが、cDNAである請求項1乃至11のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【請求項13】 請求項5乃至12のいずれかに記載のポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質。

【請求項14】 以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-
Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu-Met-Lys-Leu-Val-Asp-Ser-Lys-His-Gly-

Gln-Leu-Ile-Lys-Asn-Phe-Thr-Ile-Leu-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Thr-Gly-Asn-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Arg-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Pro-Gly-Glu-Arg-Gly-Gly-Lys-Gly-Ser-Lys-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Lys-Gly-Ser-Arg-Gly-Ser-Pro-Gly-Lys-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Asp-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Lys-Glu-Gly-Leu-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Phe-Gln-Gly-Leu-Gln-Gly-Thr-Val-Gly-Glu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Pro-Gly-Leu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Met-Pro-Gly-Pro-Lys-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Val-Val-Pro-Leu-Ala-Leu-Gln-Asn-Glu-Pro-Thr-Pro-Ala-Pro-Glu-Asp-Asn-Gly-Cys-Pro-Pro-His-Trp-Lys-Asn-Phe-Thr-Asp-Lys-Cys-Tyr-Tyr-Phe-Ser-Val-Glu-Lys-Glu-Ile-Phe-Glu-Asp-Ala-Lys-Leu-Phe-Cys-Glu-Asp-Lys-Ser-Ser-His-Leu-Val-Phe-Ile-Asn-Thr-Arg-Glu-Glu-Gln-Gln-Trp-Ile-Lys-Lys-Gln-Met-Val-Gly-Arg-Glu-Ser-His-Trp-Ile-Gly-Leu-Thr-Asp-Ser-Glu-Arg-Glu-Asn-Glu-Trp-Lys-Trp-Leu-Asp-Gly-Thr-Ser-Pro-Asp-Tyr-Lys-Asn-Trp-Lys-Ala-Gly-Gln-Pro-Asp-Asn-Trp-Gly-His-Gly-His-Gly-Pro-Gly-Glu-Asp-Cys-Ala-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ala-Gly-Gln-Trp-Asn-Asp-Phe-Gln-Cys-Glu-Asp-Val-Asn-Asn-Phe-Ile-Cys-Glu-Lys-Asp-Arg-Glu-Thr-Val-Leu-Ser-Ser-Ala-Leu (配列番号: 2、第206～547位)

で示されるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質。

【請求項 15】 以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Lys-Leu-Val-Asp-Ser-Lys-His-Gly-Gln-Leu-Ile-Lys-Asn-Phe-Thr-Ile-Leu-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Thr-Gly-Asn-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Arg-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Pro-Gly-Glu-Arg-Gly-Gly-Lys-Gly-Ser-Lys-Gly-Ser-Gln-Gly-Pro-Lys-Gly-Ser-Arg-Gly-Ser-Pro-Gly-Lys-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Asp-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Lys-Glu-

Gly-Leu-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Pro-Gly-Phe-Gln-Gly-Leu-Gln-Gly-Thr-Val-Gly-Glu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Pro-Gly-Leu-Pro-Gly-Val-Pro-Gly-Met-Pro-Gly-Pro-Lys-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Val-Val-Pro-Leu-Ala-Leu-Gln-Asn-Glu-Pro-Thr-Pro-Ala-Pro-Glu-Asp-Asn-Gly-Cys-Pro-Pro-His-Trp-Lys-Asn-Phe-Thr-Asp-Lys-Cys-Tyr-Tyr-Phe-Ser-Val-Glu-Lys-Glu-Ile-Phe-Glu-Asp-Ala-Lys-Leu-Phe-Cys-Glu-Asp-Lys-Ser-Ser-His-Leu-Val-Phe-Ile-Asn-Thr-Arg-Glu-Glu-Gln-Gln-Trp-Ile-Lys-Lys-Gln-Met-Val-Gly-Arg-Glu-Ser-His-Trp-Ile-Gly-Leu-Thr-Asp-Ser-Glu-Arg-Glu-Asn-Glu-Trp-Lys-Trp-Leu-Asp-Gly-Thr-Ser-Pro-Asp-Tyr-Lys-Asn-Trp-Lys-Ala-Gly-Gln-Pro-Asp-Asn-Trp-Gly-His-Gly-His-Gly-Pro-Gly-Glu-Asp-Cys-Ala-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ala-Gly-Gln-Trp-Asn-Asp-Phe-Gln-Cys-Glu-Asp-Val-Asn-Asn-Phe-Ile-Cys-Glu-Lys-Asp-Arg-Glu-Thr-Val-Leu-Ser-Ser-Ala-Leu (配列番号：2、第229～547位)

で示されるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質。

【請求項16】 前記コレクチンタンパク質が、第一メチオニン残基（配列番号：2、第229位）の上流に以下のアミノ酸配列：

Met-Glu-Glu（配列番号：2、第226～228位）または

Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu（配列番号：2、第211～228位）

をさらに含む請求項15記載のコレクチンタンパク質。

【請求項17】 前記コレクチンタンパク質が、第一メチオニン残基（配列番号：2、第229位）の上流に以下のアミノ酸配列：

Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-

Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号 : 2、第102~228位)、

Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号 : 2、第91~228位)、

Met-Asn-Leu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Thr-Gln-Val-Gln-Gln-Arg-Asn-Leu-Ile-Thr-Asn-Leu-Gln-Arg-Ser-Val-Asp-Asp-Thr-Ser-Gln-Ala-Ile-Gln-Arg-Ile-Lys-Asn-Asp-Phe-Gln-Asn-Leu-Gln-Gln-Val-Phe-Leu-Gln-Ala-Lys-Lys-Asp-Thr-Asp-Trp-Leu-Lys-Glu-Lys-Val-Gln-Ser-Leu-Gln-Thr-Leu-Ala-Ala-Asn-Asn-Ser-Ala-Leu-Ala-Lys-Ala-Asn-Asn-Asp-Thr-Leu-Glu-Asp-Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号 : 2、第9~228位)、または

Met-Tyr-Ser-His-Asn-Val-Val-Ile-Met-Asn-Leu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Thr-Gln-Val-Gln-Gln-Arg-Asn-Leu-Ile-Thr-Asn-Leu-Gln-Arg-Ser-Val-

Asp-Asp-Thr-Ser-Gln-Ala-Ile-Gln-Arg-Ile-Lys-Asn-Asp-Phe-Gln-Asn-Leu-Gln-Gln-Val-Phe-Leu-Gln-Ala-Lys-Lys-Asp-Thr-Asp-Trp-Leu-Lys-Glu-Lys-Val-Gln-Ser-Leu-Gln-Thr-Leu-Ala-Ala-Asn-Asn-Ser-Ala-Leu-Ala-Lys-Ala-Asn-Asn-Asp-Thr-Leu-Glu-Asp-Met-Asn-Ser-Gln-Leu-Asn-Ser-Phe-Thr-Gly-Gln-Met-Glu-Asn-Ile-Thr-Thr-Ile-Ser-Gln-Ala-Asn-Glu-Gln-Asn-Leu-Lys-Asp-Leu-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Asp-Ala-Glu-Asn-Arg-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asn-Gln-Leu-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Leu-Phe-Glu-Thr-Asp-Ile-Val-Asn-Ile-Ile-Ser-Asn-Ile-Ser-Tyr-Thr-Ala-His-His-Leu-Arg-Thr-Leu-Thr-Ser-Asn-Leu-Asn-Glu-Val-Arg-Thr-Thr-Cys-Thr-Asp-Thr-Leu-Thr-Lys-His-Thr-Asp-Asp-Leu-Thr-Ser-Leu-Asn-Asn-Thr-Leu-Ala-Asn-Ile-Arg-Leu-Asp-Ser-Val-Ser-Leu-Arg-Met-Gln-Gln-Asp-Leu-Met-Arg-Ser-Arg-Leu-Asp-Thr-Glu-Val-Ala-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Met-Glu-Glu (配列番号：2、第1～228位)

をさらに含む請求項15記載のコレクチンタンパク質。

【請求項18】 前記コレクチンタンパク質が、ヒト由来のコレクチンタンパク質である請求項13乃至17のいずれかに記載のコレクチンタンパク質。

【請求項19】 請求項13乃至18のいずれかに記載のコレクチンタンパク質のアミノ酸配列において、1または複数のアミノ酸が欠失、置換及び／または付加されたアミノ酸配列からなり、且つ、(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD)、及び (2) コラーゲン様領域を含むことを特徴とするコレクチンタンパク質。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体防御機構の解明に有用であり、また抗ウイルス活性などを含む生理活性を有することが期待され、医薬品用途への応用が可能であると考えられる、新規コレクチンに関する。

【0002】

【従来の技術】

コレクチンは、 Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD) 及びコラーゲン様領域を有するタンパク質の総称であり、細菌、ウイルスを始め様々な微生物に対する基礎免疫に関与していると考えられている。

【0003】

これまでに見出されているコレクチンとして、マンナン結合タンパク質 (MBP)、サーファクタントタンパク質 A (SP-A) およびサーファクタントタンパク質 D (SP-D)、コングルチニンなどを挙げることができる。これらのコレクチンは、図 1 (a) に示すような、(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD)、及び (2) コラーゲン様領域の特徴的な領域を含む基本構造から構成されていることが知られており [Malhortraら、ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・イムノロジー (Eur.J.Immunol.)、22巻、1437~1445頁、1992年]、この基本構造 3 個がコラーゲン様領域においてトリプルヘリックスを構成することによりサブユニットを形成し、さらにこのサブユニットが 3 量体、4 量体、6 量体等のオリゴマー構造を形成している。

【0004】

脊椎動物では、細胞を介する免疫応答および特異的抗体反応によるメカニズムが、病原菌、ウイルスなどの侵入に対する最大の生体防御システムと考えられている。最近になって、コングルチニン等のレクチンによる非特異的な免疫応答への関与が示唆され、例えば、母親の移行抗体や特異的防御システムが十分に発達していない小児に対し、種々の微生物の中和作用や排除に重要な役割を果たしているとの報告がなされている [Superら、ランセット (Lancet)、2巻、1236~1239頁、1989年]。さらに、宿主の生体防御におけるこれらレクチンの役割について、例えば、MBPの遺伝子上の変異に起因したMBPの血中濃度の低下によって、宿主が感染を受けやすくなるという研究結果が報告されている [Sumiyaら、ランセット、337巻、1569~1570頁、1991年]。

【0005】

本発明者らのグループは、以前に、コングルチニンおよびマンナン結合タンパ

ク質が、H1およびH3タイプのインフルエンザAウイルスの感染や赤血球凝集活性を阻害することを見出した[Wakamiyaら、Glycoconjugate J.、8巻、235頁、1991年；Wakamiyaら、Biochem. Biophys. Res. Comm.、187巻、1270～1278頁、1992年]。

【0006】

その後さらに、コングルチニンをコードするcDNAクローンを取得し、コングルチニンと種々のサーファクタントタンパク質D遺伝子との間の強い関連性も見出されている[Suzukiら、Biochem. Biophys. Res. Comm.、191巻、335～342頁、1993年]。

【0007】

このように、コレクチンは、生体防御機構の解明における有用性及び生理活性医薬物質としての有用性などが期待される物質であり、このファミリーに属する新規分子種の発見は、感染症の治療の他種々の医療分野、そして生物学の分野にも寄与するところ大である。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、かかる現状に鑑みてなされたものであり、特にヒトの体内で抗細菌、抗ウイルス活性などの生理活性を発揮することが期待される新規コレクチンを得ることを目的とするものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

すなわち、本発明は、

- [1] 配列番号：2の第206～547位で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、
- [2] 配列番号：2の第229～547位で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、
- [3] 配列番号：1の第670～1695位で示される塩基配列を含むポリヌクレオチド

[4] 配列番号：1の第739～1695位で示される塩基配列を含むポリヌクレオチド

[5] 配列番号：4及び配列番号：5で示される塩基配列を有するプライマーを用いて行ったPCR反応の増幅産物であるプローブと、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができ、且つコレクチンタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

[6] [1]乃至[5]に記載のポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズでき、該ポリヌクレオチドによってコードされるタンパク質が、(1)

Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域(CRD)、及び(2)コラーゲン様領域を含む、ヒトコレクチンタンパク質であるポリヌクレオチド、

[7] [3]乃至[6]に記載のポリヌクレオチドによってコードされるコレクチンタンパク質、

[8] 配列番号：2の第206～547位で示されるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質、

[9] 配列番号：2の第229～547位で示されるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質、

[10] [7]乃至[9]のいずれかに記載のコレクチンタンパク質のアミノ酸配列において、1または複数のアミノ酸が欠失、置換及び／または付加されたアミノ酸配列からなり、且つ、(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域(CRD)、及び(2)コラーゲン様領域を含む、コレクチンタンパク質をその要旨とし、

コレクチンに特徴的な構造を有し、従来報告されているものとは異なる新規のコレクチン遺伝子及びタンパク質を提供するものである。

【0010】

【発明の実施の形態】

如上の本発明において、前記ポリヌクレオチド[1]～[6]は、好ましくはcDNAである。

【0011】

上記[2]に示されるポリヌクレオチドは、少なくとも配列番号：2の第229～547位で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする塩基配列を含むが

、第一メチオニン残基の上流に、さらなる塩基配列、例えば、配列番号：2の第226～228位もしくは第211～228位、または配列番号：2の第102～228位、第91～228位、第9～228位、第1～228位などのアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする塩基配列を含みうるものである。

【0012】

また、上記[4]に示されるポリヌクレオチドは、塩基配列の5'上流に配列番号：1の第730～738位もしくは第685～738位、または第358～738位、第325～738位、第79～738位、第55～738位もしくは第1～738位で示される塩基配列をさらに含みうる。

【0013】

さらに、上記[3]または[4]に示されるポリヌクレオチドはの3'下流には、配列番号：1の第1696～2024位で示される塩基配列をさらに含みうる。

【0014】

なお、本発明の上記タンパク質[7]～[10]はヒト由来であることが、ヒトの体内で抗細菌、ウイルス活性などを発揮できることが期待され、生理活性医薬物質としての有用性に鑑みて好ましい。従って、本発明のタンパク質は、ヒト由来のコレクチンタンパク質を企図するものであり、様々なヒト生体組織を検討したところ、有用と考えられるコレクチンタンパク質がヒト胎盤等に発現されていることが示された。

【0015】

そして、上記[9]に示されるコレクチンタンパク質は、少なくとも配列番号：2の第229～547位で示されるアミノ酸配列を含むものであるが、その第一メチオニン残基の上流に、例えば、配列番号：2の第226～228位もしくは第211～228位、または配列番号：2の第102～228位、第91～228位、第9～228位、第1～228位などのアミノ酸配列をさらに含みうるものである。

【0016】

上記[5]または[6]におけるストリンジントなハイブリダイゼーション条件としては、例えば、5 x SSC (20 x SSC (3 M NaCl, 0.3 Mクエン酸ナトリウム) を4倍希釈することにより5 x SSCを調製)、1%ブロッキング剤(ペーリンガー・

マンハイム社製)、0.1% N-ラウロイルサルコシン、0.02% SDSの溶液中で、68℃にて1時間プレハイブリダイゼーション; cDNAプローブ (10 ng/ml) を含む5 x SSC、1%ブロッキング剤、0.1% N-ラウロイルサルコシン、0.02% SDSの溶液中で、55℃にて16時間ハイブリダイゼーション: 2 x SSC/0.1% SDS溶液で5分間2回洗浄; 55℃にて、0.5 x SSC/0.1% SDS溶液で15分間2回洗浄を行う一連の処理工程を含むハイブリダイゼーションが含まれるが、当該技術分野における知識に基づき、溶液濃度や温度、時間等の条件を適宜に変更することができる。

【0017】

そして、上記[10]における、1または複数のアミノ酸の欠失、置換及び/または付加とは、コレクチンタンパク質の親水性・疎水性、酸性・塩基性、含有基などに大幅な変化をきたさず、(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD) 及び(2) コラーゲン様領域の有する各々の特徴を変えることが少ない範囲でのアミノ酸の欠失、置換及び/または付加を称する。これまでに報告されているコレクチンファミリーのタンパク質のアミノ酸配列とその構造に基づき、例えば(1) Ca^{2+} 要求性の糖認識構造様領域 (CRD) において1~10程度、(2) コラーゲン様領域において1~100程度、好ましくは1~15のアミノ酸の欠失、置換及び/または付加が許容され则认为られる。

【0018】

以下に、本発明の新規コレクチンに関して、実施例に沿って詳細に説明するが、これら実施例の開示によって、本発明が限定的に解釈されるべきでないことは勿論である。

【0019】

すなわち、ESTデータベースの検索(実施例1)、スクリーニング用プローブの作製(実施例2)、ヒト胎盤由来cDNAライブラリーのスクリーニング(実施例3)、新規コレクチンの塩基配列の決定(実施例4)、新規コレクチンのゲノミックサザン分析(実施例5)、新規コレクチンのヒトの種々の組織に対するノーザン分析(実施例6)、新規コレクチンの種々の動物種の組織についてのゲノミックサザン分析(実施例7)ならびに新規コレクチンの遺伝学的解析(実施例8)について以下に説明する。

【0020】

実施例1：ESTデータベースの検索

既知のコレクチンすなわち、ヒトMBP、ヒトSP-A及びヒトSP-Dのアミノ酸配列（図2及び3参照、図中、相同と認められるアミノ酸残基部分に囲みを付した）を比較することにより、分子間に保存性の高い領域の検索を行った。この結果、ヒトMBPのアミノ酸配列における第220番目から246番目までの27アミノ酸（図3、白抜文字部分、配列番号：6）に保存性が高いことが明かとなったので、この領域に相当するコンセンサス配列をいくつか作成し、EST（Expressed Sequence Tags）データベースの検索を行った。ESTデータベースは、1996年10月11日に、676750件の配列を含むものを使用した。

【0021】

その結果、上記27アミノ酸の配列と相同性の高いアミノ酸配列を含むデータがいくつか得られた。得られたデータのアミノ酸配列についてGenBank/ESTデータベースの検索を行い、既知または未知物質のいずれであるかを判定した結果、コンセンサス配列として、

Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Met-Tyr-Thr-Asp-Gly-Lys-Trp-Asn-Asp-Arg-Asn-Cys-Leu-Gln-Ser-Arg-Leu-Ala-Ile-Cys-Glu-Phe（配列番号：3）で示されるアミノ酸配列を用いて検索したときに得られたデータの中に、相同性は高いが未知の塩基配列を含む2種のデータ（登録番号：W72977及びR74387）を得ることができた。これらは、それぞれ、胎盤由来および胎児心臓由来であり、新規コレクチンの塩基配列の一部を示すクローンであった。

【0022】

そこで、このうち、胎児心臓由来のクローン（I.M.A.G.E. Consortium Clone ID 34472）をATCC（American Type Culture Collection）より購入して、以下の新規コレクチン取得のためのスクリーニング用プローブ作製に利用した。

【0023】

実施例2：スクリーニング用プローブの作製

上記クローンのインサートDNAの塩基配列を、プライマー（ファルマシア社製、M13 Universal Primer（配列番号：7、5'-フルオレセイン-cgacgttgtaaaacga

cggccagt-3') 及び M13 Reverse Primer (配列番号: 8、5'-フルオレセイン-cag gaaacagctatgac-3')) で決定した。

【0024】

この塩基配列から読取枠をコレクチンのアミノ酸配列に合わせて、そこから読み取ることができるアミノ酸配列に相当する塩基配列を抽出し、この一部分に相当するジゴキシゲニン (DIG) ラベル cDNA プロブ用プライマー (Reverse プライマー、caatctgatgagaaggtgatg (配列番号: 4) 及び Forward プライマー、acg aggggctggatgggacat (配列番号: 5) を、アプライドバイオシステムズ社製 392A DNA/RNA シンセサイザーを用いて作製した。DIG ラベルは、PCR DIG プロブ合成キット (ベーリンガー・マンハイム社製) を用いて行った。反応組成は以下のとおりである (プラスミド DNA (クローン W72977、50 ng/ μ l) : 2 μ l (100 ng)、10 x 緩衝液: 5 μ l、25 mM $MgCl_2$: 5 μ l、dNTP (PCR ラベリングミックス) : 5 μ l、20 μ M Reverse プライマー : 2.5 μ l、20 μ M Forward プライマー : 5 μ l、 H_2O : 28 μ l、Taq ポリメラーゼ : 0.5 μ l)。PCR 反応は、アトー社製ザイモリアクターを用いて、92°C 1 分、55°C 1 分、72°C 2 分のサイクルを 35 回行った。

【0025】

実施例 3 : ヒト胎盤由来 cDNA ライブラリーのスクリーニング

先ず、以下のようにヒト胎盤由来ファージ cDNA ライブラリーのタイトレーションを行った。mLB 培地 (10 mM $MgSO_4$ 及び 0.2% マルトースを含む LB 培地 (1 g トリプトン、0.5 g イーストエキストラクト、0.5 g NaCl/100 ml) で 37°C にて 16 時間培養した *Escherichia coli* Y1090r⁻ 0.2 ml と、SM 緩衝液 (5.8 g NaCl、2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、2 M Tris-HCl (pH 7.5) 25 ml、5 ml 2% ゼラチン/L) で段階希釈した cDNA ライブラリー 0.1 ml を 37°C 15 分 インキュベートし、その後 2.5 ml の LB-TOP アガロース (0.75% アガロース/LB 培地) に加え均一とし、90mm ϕ LB 培地プレート (岩城硝子社製) (1.5% アガー/LB 培地) にまいた。15 分間室温で固化させ、42°C にて 5 時間 インキュベーションした。各プレートのプラークを計数後、ファージのタイターを計算により求めた。その結果、タイターは 2.1×10^{10} pfu/ml であった。このようにタイトレーションを行った cDNA ライブラリーにつき、実施例 2 で作製したプロブを用いて以下の通りにスクリーニングを行った。

【0026】

mLB培地で37℃にて16時間培養した *Escherichia coli* Y1090r⁻ 0.6mlとSM 緩衝液で希釈したcDNAライブラリー 1×10^5 pfuを、37℃にて15分間インキュベートし、その後7.5 ml LB-TOP アガロース (0.75%アガロース) に加えて均一とした。これを140 mm²のLB培地角プレート (日水製薬社製) にまいたものを10枚作製し、15分間室温で固化させ、42℃にて5時間インキュベーションした。プラーク形成を確認後、次に、ナイロンメンブレンへの転写を行った。転写は、ナイトラン (Nytran) 13N (シュライヒャーアンドシュウェル社製 (Schleicher and Schuell Co.)) を用いて行った。12.5 cm x 9.0 cmのフィルターを蒸留水に浸けて10分間湿らせた後、ワットマン3MM紙上において余分な水分を除去し、プラークを形成したプレート上にフィルターを置いた。2分間放置した後、フィルターを剥がし、10分間風乾させた。0.2 M NaOH/1.5 M NaClにより2分間ファージDNAを変性させ、0.4 M Tris-HCl (pH7.6) / 2 x SSCで2分間中和し、2 x SSCで2分間洗浄を行った。その後、GS GENE LINKER (バイオラッド社製) で紫外線照射することによりファージDNAをメンブレンに固定した。ハイブリダイゼーションおよびシグナルの検出は以下の様に行った。フィルターを2 x SSCで湿らせ、余分な水分をワットマン3MM紙で除去し、ハイブリダイゼーションバックに移しハイブリダイゼーション溶液 (5 x SSC、1%ブロッキング剤、0.1% N-ラウロイルサルコシン、0.02% SDS) と68℃にて1時間プレハイブリダイゼーションを行った。続いて、バックからハイブリダイゼーション溶液を除き、そこへDIGでラベルしたcDNAプローブを10 ng/mlになるように調製したハイブリダイゼーション溶液を加え、55℃にて16時間ハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーション終了後、フィルターは室温にて2 x SSC/0.1%SDS溶液で5分間、2回洗浄し、55℃にて、0.5 x SSC/0.1%SDS溶液で15分間2回洗浄した。次にDIG緩衝液 I (100 mM Tris-HCl、150 mM NaCl (pH7.5)) で1分間、SDSを除去し、DIG緩衝液II (1%ブロッキング剤、DIG緩衝液 I) で30分間、フィルターのブロッキングを行った。DIG緩衝液 I で1分間洗浄し、次いでDIG緩衝液IIで抗DIGアルカリフォスファターゼ標識抗体 (ベーリンガー・マンハイム社製) を5000倍希釈した溶液を加えて、30分間抗体反応を室温で行った後、室温でDIG緩衝液 I で15分間

2回洗浄した。DIG緩衝液III (100 mM Tris-HCl、100 mM NaCl (pH 9.5)、50 mM $MgCl_2$) で3分間処理することにより Mg^{2+} の濃度を高め、NBT/BCIP (和光純薬社製) をDIG緩衝液IIIに加えた溶液で発色させたところ、10個の陽性クローンが得られた。これらのクローンに相当するブランクをプレートから切り出し、SM緩衝液1 mlを入れたチューブに加え、10分間攪拌した後SM緩衝液で段階希釈し、この希釈液0.1 mlとmLB培地で37℃16時間培養した*Escherichia coli* Y1090r⁻0.2 mlを混ぜ、37℃にて15分間インキュベートした。その後、混合液を2.5 ml LB-TOPアガロースに加えて均一とし、90mmφLB培地プレートにまいたものを10枚作製し、15分間室温で固化させ、42℃にて5時間インキュベーションし、いくつかのブランクを得、一次スクリーニングと同様にして二次スクリーニングを行った。

【0027】

実施例4：新規ヒトコレクチンの塩基配列の決定

二次スクリーニングで得られた陽性クローンのうち適切と考えられるクローンのブランクをプレートから切り出し、蒸留水 200 μ lを入れたチューブに加えて30分間室温で攪拌した後、15,000 rpmで5分間遠心分離し、上清を得た。

【0028】

得られた上清を鋳型とし、TaKaRa LA PCR Kit Ver.2 (宝酒造社製) を用い、PCRによりインサートDNAを増幅させた。PCRの反応組成は以下のとおりである (上清 : 27 μ l、10 x LA PCR 緩衝液 II (Mg^{2+} 不含) : 5 μ l、25 mM $MgCl_2$: 5 μ l、dNTPミックス : 8 μ l、20 μ M λ gt11 Reverseプライマー (配列番号 : 9、5'-ttgacaccagaccaactggtaatg-3') : 2.5 μ l、20 μ M λ gt11 Forwardプライマー (配列番号 : 10、5'-ggtagcgacgactcctggagcccg-3') : 2.5 μ l、LA Taq ポリメラーゼ : 0.5 μ l、 H_2O : 全容量50 μ lになるように添加)。PCR反応は、アプライドバイオシステムズ社製ジーンAmp PCRシステム9600を用いて、98℃20秒、68℃5分のサイクルを30回行った。PCR産物は、1%アガロースゲル電気泳動にて確認後、ゲルからの切り出しにより精製した。精製には、ファルマシア社製Sephaglas BandPrep Kitを用いた。

【0029】

切り出したDNA断片は、インビトロジェン社製TAクローニングキットのpCR2.1ベクターに組み込んだ。組換えたベクターは、インビトロジェン社製TAクローニングキットに含まれるTOP10F'細胞に形質転換した。形質転換体をLB培地（100 μ g/ml アンピシリン）で培養し、アルカリSDS法により各クローンにつき3種類のプラスミドDNAを抽出した。

【0030】

得られたDNAを適当と考えられる制限酵素で切断し、各DNA断片をpUC18ベクターに組み込み、XL1-Blue cellに形質転換した。形質転換体をLB培地（100 μ g/ml アンピシリン）で培養し、アルカリSDS法によりプラスミドを抽出した。CL-P1-2-1からは、EcoR I-Hind IIIフラグメント、Hind III-EcoR Iフラグメントを含むプラスミド、CL-P1-3-4からは、EcoR I-BamH Iフラグメント、BamH I-Sma Iフラグメント、Sma I-Hind IIIフラグメント、Kpn I-Sau3A Iフラグメント、Sau3A I-EcoR Iフラグメント、EcoR I-Kpn Iフラグメント、EcoR I-Sma Iフラグメントを含むプラスミド、CL-P1-3-7からは、EcoR I-BamH Iフラグメント、BamH I-Sma Iフラグメント、Sma I-Hind IIIフラグメント、Kpn I-Sau3A Iフラグメント、Sau3A I-EcoR Iフラグメント、EcoR I-Kpn Iフラグメント、Kpn I-EcoR Iフラグメントを含むプラスミドを得た。プライマーはAutoRead Sequencing Kit（ファルマシア社製）添付のM13 Universal Primer（配列番号：7）、M13 Reverse Primer（配列番号：8）およびFITC（ファルマシア社製FluorePrime）にてラベルした以下のプライマーをDNA/RNAシンセサイザーを用いて作成し、ファルマシア社製オートリード・シーケンシング・キットおよびA. L. F.オートシーケンサーで全領域の塩基配列を決定した。

【0031】

- HPP 1 : 5'-フルオレセイン-cgtgaaaatgaatggaagtgg-3'（配列番号：11）、
 HPP 2 : 5'-フルオレセイン-ttttatccattgctgttcctc-3'（配列番号：12）、
 HPP 3 : 5'-フルオレセイン-ctggcagtcctccgaggtccag-3'（配列番号：13）、
 HPP 5 : 5'-フルオレセイン-gctggtcccccgagagcgt-3'（配列番号：14）

以上実施した塩基配列決定における概略は、図4に示す通りである。図4（a

）に、得られたコレクチンのORFが示され、この中のG-X-Yはコラーゲン様領域を表すものである。また、図4（b）に、上記各プライマー名、シーケンサーにより読み取られた塩基配列（矢印により表される）ならびにM13 Universal Primer（Uで表される）およびM13 Reverse Primer（Rで表される）を示す。

【0032】

さらに Cap site cDNAを用いて、この配列の転写開始点を含む5'末端領域の塩基配列を決定した。

【0033】

Cap Site cDNA, Human Liver（NIPPON GENE 社製）により、添付の 1RC2 Primer（5'-caaggtacgccacagcgtatg-3'（配列番号：15））および Applied Biosystems 社製 392A DNA/RNA シンセサイザーにより合成した TGP1 Primer（5'-tcttcagtttcctaatccc-3'（配列番号：16））を用いて第1回PCRを行った。反応混液は、総液量 50 μ lにて、LA PCR Buffer II（ Mg^{2+} 不含）、2.5 mM $MgCl_2$ 、それぞれ200 μ MのdATP、dCTP、dGTP及びdTTP（以上 宝酒造社製）を1 μ l：Cap Site cDNA Human Liver, 0.5 μ M 1RC2 Primer（以上 NIPPON GENE 社製）、ならびに0.5 μ M TGP1 Primerを含むものとした。PCRは、熱変性95℃にて20秒、アニーリング60℃にて20秒、伸長反応72℃にて20秒を35サイクル、また繰り返し反応前に熱変性95℃にて5分、最後に伸長反応72℃にて10分を含むプログラムで行った。第1回PCR終了後、nested PCR を行った。第1回PCR産物1 μ l を鋳型とし、プライマーは添付の2RC2 Primer（5'-gtacgccacagcgtatgatgc-3'（配列番号：17））および合成 TGP2 Primer（5'-cattcttgacaaacttcataag-3'（配列番号：18））（TGP1 Primer と同様に合成したもの）を用い、第1回PCR と同様の反応組成、プログラム（但し、サイクル数は25サイクル）で行った。以上の PCR 反応は宝酒造社製 TaKaRa PCR Thermal Cycler 480 により行った。得られた PCR 産物をアガロースゲル電気泳動により確認後、バンドをゲルより切り出し、-80℃、10 min. 凍結し、15000 rpm, 10 min. 遠心分離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。

【0034】

精製した DNA 断片は、Novagen 社製 pT7Blue Vector に組み込み、このベク

ターをコンピテントセル XL1-Blue 細胞に形質転換した。形質転換体を LB 培地 (100 μ g/ml アンピシリン) で培養し、アルカリ SDS 法によりプラスミドを抽出し、Pharmacia 社製 AutoRead Sequencing Kit および A. L. F. DNA Sequencer で塩基配列の決定を行った。プライマーは AutoRead Sequencing Kit 添付の M13 Universal Primer (配列番号: 7) および M13 Reverse Primer (配列番号: 8) を用いた。

【0035】

この結果、実施例3で取得された新規コレクチンのcDNAクローンは、2024塩基を含み、1026塩基のORF (転写解読枠) を有し (配列番号: 1 参照)、配列番号: 2 に示される342のアミノ酸をコードしていることが確認できた。

【0036】

次いで、GenBankデータベースでDNA及びアミノ酸についての相同性の検索を行った結果、得られたアミノ酸配列は、従来見出されているコレクチンのいずれとも異なる新規タンパク質の配列であることが明らかとなった。

【0037】

また、従来報告されている3種のコレクチンタンパク質のアミノ酸配列と、本発明のコレクチンタンパク質のアミノ酸配列を比較した。そのアラインメントを図5及び6に示す。図2及び3と同様に、相同性を有するアミノ酸残基部分に囲みを付した。このアラインメントにより、得られた新規タンパク質は既知コレクチンタンパク質と相同性を有し、コレクチンファミリーに属していることが示される。

【0038】

実施例5：新規コレクチンのゲノミックサザン分析

実施例4において明らかにされたcDNA配列を有する新規コレクチンの遺伝子が、シングルコピー遺伝子であるかまたはマルチコピー遺伝子であるかを明らかにするために、ゲノミックサザン分析を行った。

【0039】

ヒト血液由来のヒトゲノムDNA (プロメガ社製) の4 μ g相当量を、制限酵素の (1) EcoR I、(2) Xba I、(3) Hind III、(4) Pst I、(5) Bgl IIまた

は(6) BamH Iで消化し、0.8%アガロースゲルにて、100 mAで3時間電気泳動した。泳動終了後、ナイロンメンブレン(ナイトラン13N)に転写して、分析用のメンブレンを作製した。転写は、先ず、電気泳動後のゲルを100 mlの0.25 N HClに10分間浸し、蒸留水で3回洗浄した後、100 mlの変性液(1.5 M NaCl、0.5 M NaOH)に15分間2回浸し、100 mlの中和液(0.5 M Tris-HCl、3 M NaCl (pH 6.8))に30分間浸すことによって脱プリン化、変性及び中和の処理を施し、次いでバキュームブロッティングシステム(東洋紡エンジニアリング社製、VB-30)を用いて転写した。この際、メンブレンは、2 x SSCに5分間、次に20 x SSCに5分間浸漬して前処理したものを用い、パッドは、20 x SSCをしみこませておいたものを用いた。転写終了後、UV照射により固定処理を施した。

【0040】

サザン分析のためのハイブリダイゼーション用プローブとしては、実施例4で得られた新規コレクチンのcDNA配列のORFの一部を、プライマー：

5'-gaagacaagtcttcaactcttg-3' (配列番号：19) 及び

5'-ctctgagtcgtgtgaggccgac-3' (配列番号：20) と、前記のPCR DIGプローブ合成キットを用いてDIGラベルしたDNAプローブ：

gaagacaagt cttcacatct tgttttcata aacactagag aggaacagca atggataaaa
aacagatgg tagggagaga gagccactgg atcggcctca cagactcaga g (配列番号：21)

)を用いた。ハイブリダイゼーションの前に、プローブは10分間煮沸し、5分間ドライアイス/エタノールで急速凍結処理しておいた。

【0041】

先ず、転写後のメンブレンを2 x SSCに5分間浸し、ExpressHyb Hybridization Solution (クローンテック社製) 10 ml中で65℃にて30分間プレハイブリダイゼーションを行った。次いで、前記凍結処理後のプローブをExpressHyb Hybridization Solutionで10 ng/mlとなるように希釈し、この溶液2 mlを用いて、65℃にて1時間ハイブリダイゼーションを行った。

【0042】

ハイブリダイゼーション後のメンブレンの洗浄は、2 x SSC、0.1% SDS溶液20 mlで室温にて5分間ずつ2回振盪し、続いて0.2 x SSC、0.1% SDS溶液20 mlで65

℃にて15分間ずつ2回振盪しながら行った。SDSを除去するために、DIG緩衝液I (100 mM Tris-HCl、150 mM NaCl (pH 7.5)) 50 mlで室温にて1分間2回洗浄し、次にDIG緩衝液II' (1.5%ブロッキング剤、DIG緩衝液I) 50 mlで室温にて1時間ブロッキングを行った。次いで、0.2%Tween20を含むDIG緩衝液Iで5000倍に希釈しておいた抗DIGアルカリホスファターゼ標識抗体10 mlで30分間処理し、0.2%Tween20を含むDIG緩衝液Iを50 ml用い室温にて20分間、振盪しながら洗浄を2回行った。10 mlのDIG緩衝液IIIに室温にて3分間2回浸した後、メンブレンをハイブリバックに移し、DIG緩衝液IIIで100倍に希釈しておいたCSPD (登録商標、ペーリンガー・マンハイム社製、化学発光基質) を全体にゆきわたるように延ばし、インスタントフィルムT612 (ポラロイド社製) 上で感光させた。

【0043】

この結果、図7の各レーンに示されるように、各制限酵素で処理したゲノムDNAより、それぞれ1~2個のシグナルしか検出されないので、得られた新規コレクチン遺伝子がシングルコピー遺伝子であることが推測された。

【0044】

実施例6：新規コレクチンのヒトの組織における発現分布解析

本発明の新規コレクチンの mRNA の種々の組織における発現を調べるため、RT-PCRにより解析を行った。

【0045】

種々の組織由来のRNA ((1) 脳、(2) 心臓、(3) 腎臓、(4) 脾臓、(5) 肝臓、(6) 小腸、(7) 筋組織、(8) 精巣、(9) 胎盤、または(10) 大腸 (OriGene Technologies, Inc. 製)) を鋳型とし、RNA LA PCR Kit (AMV) Ver.1.1 (宝酒造社製) を用いてRT-PCRを実施した。まず以下の反応組成で逆転写反応を行った。5mM MgCl₂、1 x RNA PCR Buffer、1mM dNTP Mixture、1U/μl RNaseインヒビター、0.25 U / μl 逆転写酵素、0.125 μM Oligo dT-Adaptor Primer、RNA 1 μgを含み、全量 20 μl になるように RNase不含の蒸留水で調節した。同時に逆転写酵素を含まない反応組成も調製して、ネガティブコントロールとした。上記反応液を0.2 ml チューブに入れ、TaKaRa PCR Thermal Cycler PERSONAL (宝酒造社製) で42℃で30分間、99℃で5分間、5℃で5分間の1サイクル

でPCRを行った。得られたPCR産物を用いて、続いて以下の反応組成でLA PCRを行った。2.5mM $MgCl_2$ 、1 x LA PCR Buffer II (Mg^{2+} 不含)、2U TaKaRa LA Taq, 得られた新規コレクチンのcDNA配列のネック領域から糖認識構造様領域を増幅できるようなプライマー2種類 (RT-PCR Primer U: 5'-gtgcccctggccctgcag aatg-3' (配列番号: 22)、RT-PCR Primer R: 5'-gcatatcaccctggggaacatttta g-3' (配列番号: 23) を0.2 μ M加え、全量 80 μ l になるように滅菌蒸留水で調節した。PCRは、94℃で2分間を1サイクル、94℃で30秒間、60℃で30秒間、72℃で1分30秒間を50サイクル行った。反応生成物を1% アガロースゲル電気泳動により分離し、エチジウムブロマイド溶液 (0.1 μ g/ml) で染色を行い、トランスイルミネーターで泳動パターンを確認し、発現組織を同定した。

【0046】

また各組織での発現量を比較するために、各組織で β -アクチン遺伝子の一部分を増幅させるRT-PCRを行い、RNAの補正を行った。方法は上記同様、逆転写反応、PCR反応を行い、上記と同様に1%アガロースゲル電気泳動を用いて判定を行った。逆転写反応の組成は、5mM $MgCl_2$ 、1 x RNA PCR Buffer, 1mM dNTP Mixture, 1U / μ l RNaseインヒビター、0.25 U / μ l逆転写酵素、2.5 μ M ランダム9 mer、RNA 10 ngを含み、全量 60 μ l になるように RNase不含の蒸留水で調節した。PCRは30℃で10分間、42℃で15分間、99℃で5分間、5℃で5分間の1サイクルを行った。得られたPCR産物を用いて、続いて以下の反応組成でPCR反応を行った。2.5mM $MgCl_2$ 、1 x LA PCR Buffer II (Mg^{2+} 不含)、2U TaKaRa LA Taq, 0.25 μ M ヒト β -アクチン・センスプライマー 5'-caagagatggccacggctgct-3' (配列番号: 24)、0.25 μ M ヒト β -アクチン・アンチセンスプライマー 5'-tccttctgcatcctgtcggca-3' (配列番号: 25) を加え、全量 40 μ l になるように滅菌蒸留水で調節した。PCRは94℃で15秒間、68℃で30秒間を30サイクル行った。

【0047】

この結果を図8に示すが、本発明の新規コレクチンのmRNAが、胎盤(レーン9)、脾臓(レーン4)、腎臓(レーン3)で発現していることが明らかとなった。特に胎盤での発現が高いことが明らかである。

【0048】

実施例 7：新規コレクチンの種々の動物についてのゲノミックサザン分析

本発明のコレクチンの遺伝子が、他の動物種において保存されているか否かを明らかにするために、ゲノミックサザン分析を実施した。

【0049】

ハイブリダイゼーション用プローブとしては、前記の新規コレクチンのcDNA配列のORFに相当する部分を、PCR DIGプローブ合成キット（ベーリンガー・マンハイム社製）を用いてDIGラベルしたDNAプローブを用い、メンブレンは、（1）ヒト（プロメガ社製）、（2）サル（クローンテック社製）、（3）ラット（プロメガ社製）、（4）マウス（プロメガ社製）、（5）イヌ（クローンテック社製）、（6）ウシ（プロメガ社製）、（7）ウサギ（クローンテック社製）及び（8）ニワトリ（プロメガ社製）のゲノムDNAをそれぞれ5 μ gずつ、制限酵素EcoRIで処理し、アガロースゲルで電気泳動した後に、ナイトラン13Nメンブレンに転写し、UV照射により固定処理を施したものをを用いた。

【0050】

以上のプローブとメンブレンを用いて、下記の工程に従ってハイブリダイゼーションを行った。まず、2 x SSCにメンブレンを5分間浸し、10mlのExpressHyb Hybridization Solution中で65℃にて30分間プレハイブリダイゼーションを行った。次いで、前記と同様に凍結処理されたプローブをExpressHyb Hybridization Solutionで10 ng/mlとなるように希釈し、この溶液2 mlを用いて、65℃にて1時間ハイブリダイゼーションを行った。

【0051】

ハイブリダイゼーション後のメンブレンの洗浄は、2 x SSC、0.1% SDS溶液20 mlで室温にて5分間2回振盪し、続いて0.2 x SSC、0.1% SDS溶液20 mlで68℃にて15分間ずつ2回振盪しながら行った。SDSを除去するために、DIG緩衝液Iで室温にて1分間2回洗浄し、次に50 mlのDIG緩衝液II'で、室温にて1時間ブロッキングを行った。次いで、0.2% Tween20を含むDIG緩衝液Iで5000倍に希釈しておいた抗DIGアルカリホスファターゼ標識抗体を10 ml用いて30分間処理し、0.2% Tween20を含むDIG緩衝液Iを50 ml用い室温にて20分間、振盪しながら洗浄を

2回行った。10 mlのDIG緩衝液IIIに室温にて3分間2回浸した後、メンブレンをハイブリバックに移し、DIG緩衝液IIIで100倍に希釈しておいたCSPDを全体にゆきわたるように延ばし、インスタントフィルムT612上で感光させた。

【0052】

この結果を図9に示すが、ニワトリ（レーン8）を除くすべての動物種において明瞭なシグナルが認められることから、本発明のコレクチン遺伝子は、哺乳類において保存されていることが明らかとなった。

【0053】

実施例8：新規コレクチンの遺伝学的解析

得られたコレクチンのDNA配列に基づき、既知のコレクチンとの遺伝的位置付けを明らかにするために解析を行い、遺伝的系統樹を作成した。

【0054】

解析の対象としたコレクチンは、図10に示す各種コレクチンファミリーのタンパク質（図中、本発明の新規コレクチンはCL-P1で示し、CL-L1は本発明者らが最近単離したヒト肝臓由来のコレクチンを示す（特願平10-11281号明細書参照））であり、GenBankデータベースからそれぞれのアミノ酸配列を検索して得られたデータをもとにレクチンドメインを含む領域を用いてclustalw法でマルチプル・アラインメントを作成し、それらをもとにN-J法（neighbor-joining法）を用い、Phylip Version 3.57c packageプログラムを用いて遺伝的系統樹を作成した。

【0055】

その結果を図10に示すが、SP-D、ウシCL-43及びウシコングルチニンで1つのクラスターを形成し、さらにMBP及びSP-Aでそれぞれ別々にクラスターを形成していたが、本発明の新規コレクチン遺伝子はCL-L1と同様これらのいずれのクラスターにも属していないことが示された。また、本発明の新規コレクチンはCL-L1とも異なる、従来報告されているコレクチンとは遺伝的に別のクラスターを形成するものと推測された。

【0056】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明によってコレクチンに特徴的な構造を有し、従来報告されているものとは異なる新規のコレクチン遺伝子及びタンパク質が提供される。

【0057】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> FUSO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.

<120> Novel Collectin

<130> 98PA0270

<160> 23

<210> 1

<211> 2024

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (670)..(1695)

<400> 1

```
gtcacgaatc tgcagcaaga taccagcgtg ctccagggca atctgcagaa ccaaattgtat    60
tctcataatg tggatcatcat gaacctcaac aacctgaacc tgaccaggt gcagcagagg    120
aacctcatca cgaatctgca gcggtctgtg gatgacacaa gccaggctat ccagcgaatc    180
aagaacgact ttcaaaatct gcagcaggtt tttcttcaag ccaagaagga cacggattgg    240
ctgaaggaga aagtgcagag ctgtcagacg ctggctgcca acaactctgc gttggccaaa    300
gccacaacg acaccttgga ggatatgaac agccagctca actcattcac aggtcagatg    360
gagaacatca ccactatctc tcaagccaac gagcagaacc tgaaagacct gcaggactta    420
```

cacaaagatg cagagaatag aacagccatc aagtccaacc aactggagga acgcttccag	480
ctctttgaga cggatattgt gaacatcatt agcaatatca gttacacagc ccaccacctg	540
cggacgctga ccagcaatct aaatgaagtc aggaccactt gcacagatac ccttaccaaa	600
cacacagatg atctgacctc ctigaataat accctggcca acatccgttt ggattctgtt	660
tctctcagg atg caa caa gat ttg atg agg tcg agg tta gac act gaa gta	711
Met Gln Gln Asp Leu Met Arg Ser Arg Leu Asp Thr Glu Val	
1 5 10	
gcc aac tta tca gtg att atg gaa gaa atg aag cta gta gac tcc aag	759
Ala Asn Leu Ser Val Ile Met Glu Glu Met Lys Leu Val Asp Ser Lys	
15 20 25 30	
cat ggt cag ctc atc aag aat ttt aca ata cta caa ggt cca ccg ggc	807
His Gly Gln Leu Ile Lys Asn Phe Thr Ile Leu Gln Gly Pro Pro Gly	
35 40 45	
ccc agg ggt cca aga ggt gac aga gga tcc cag gga ccc cct ggc cca	855
Pro Arg Gly Pro Arg Gly Asp Arg Gly Ser Gln Gly Pro Pro Gly Pro	
50 55 60	
act ggc aac aag gga cag aaa gga gag aag ggg gag cct gga cca cct	903
Thr Gly Asn Lys Gly Gln Lys Gly Glu Lys Gly Glu Pro Gly Pro Pro	
65 70 75	
ggc cct gcg ggt gag aga ggc cca att gga cca gct ggt ccc ccc gga	951
Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Pro Ile Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly	
80 85 90	
gag cgt ggc ggc aaa gga tct aaa ggc tcc cag ggc ccc aaa ggc tcc	999
Glu Arg Gly Gly Lys Gly Ser Lys Gly Ser Gln Gly Pro Lys Gly Ser	
95 100 105 110	
cgt ggt tcc cct ggg aag ccc ggc cct cag ggc ccc agt ggg gac cca	1047
Arg Gly Ser Pro Gly Lys Pro Gly Pro Gln Gly Pro Ser Gly Asp Pro	
115 120 125	
ggc ccc ccg ggc cca cca ggc aaa gag gga ctc ccc ggc cct cag ggc	1095

Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Lys Glu Gly Leu Pro Gly Pro Gln Gly	
130 135 140	
cct cct ggc ttc cag gga ctt cag ggc acc gtt ggg gag cct ggg gtg	1143
Pro Pro Gly Phe Gln Gly Leu Gln Gly Thr Val Gly Glu Pro Gly Val	
145 150 155	
cct gga cct cgg gga ctg cca ggc ttg cct ggg gta cca ggc atg cca	1191
Pro Gly Pro Arg Gly Leu Pro Gly Leu Pro Gly Val Pro Gly Met Pro	
160 165 170	
ggc ccc aag ggc ccc ccc ggc cct cct ggc cca tca gga gcg gtg gtg	1239
Gly Pro Lys Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Ala Val Val	
175 180 185 190	
ccc ctg gcc ctg cag aat gag cca acc ccg gca ccg gag gac aat ggc	1287
Pro Leu Ala Leu Gln Asn Glu Pro Thr Pro Ala Pro Glu Asp Asn Gly	
195 200 205	
tgc ccg cct cac tgg aag aac ttc aca gac aaa tgc tac tat ttt tca	1335
Cys Pro Pro His Trp Lys Asn Phe Thr Asp Lys Cys Tyr Tyr Phe Ser	
210 215 220	
gtt gag aaa gaa att ttt gag gat gca aag ctt ttc tgt gaa gac aag	1383
Val Glu Lys Glu Ile Phe Glu Asp Ala Lys Leu Phe Cys Glu Asp Lys	
225 230 235	
tct tca cat ctt gtt ttc ata aac act aga gag gaa cag caa tgg ata	1431
Ser Ser His Leu Val Phe Ile Asn Thr Arg Glu Glu Gln Gln Trp Ile	
240 245 250	
aaa aaa cag atg gta ggg aga gag agc cac tgg atc ggc ctc aca gac	1479
Lys Lys Gln Met Val Gly Arg Glu Ser His Trp Ile Gly Leu Thr Asp	
255 260 265 270	
tca gag cgt gaa aat gaa tgg aag tgg ctg gat ggg aca tct cca gac	1527
Ser Glu Arg Glu Asn Glu Trp Lys Trp Leu Asp Gly Thr Ser Pro Asp	
275 280 285	

tac aaa aat tgg aaa gct gga cag ccg gat aac tgg ggt cat ggc cat	1575
Tyr Lys Asn Trp Lys Ala Gly Gln Pro Asp Asn Trp Gly His Gly His	
290 295 300	
ggg cca gga gaa gac tgt gct ggg ttg att tat gct ggg cag tgg aac	1623
Gly Pro Gly Glu Asp Cys Ala Gly Leu Ile Tyr Ala Gly Gln Trp Asn	
305 310 315	
gat ttc caa tgt gaa gac gtc aat aac ttc att tgc gaa aaa gac agg	1671
Asp Phe Gln Cys Glu Asp Val Asn Asn Phe Ile Cys Glu Lys Asp Arg	
320 325 330	
gag aca gta ctg tca tct gca tta taacggactg tgatgggatc acatgagcaa	1725
Glu Thr Val Leu Ser Ser Ala Leu	
335 340	
attttcagct ctcaaaggca aaggacactc ctttctaatt gcatcacctt ctcacagat	1785
tgaaaaaaaaaaaaagcactg aaaaccaatt actgaaaaaaaa aattgacagc tagtggtttt	1845
taccatccgt cattacccaa agacttggga actaaaatgt tccccagggt gatatgctga	1905
ttttcattgt gcacatggac tgaatcacat agattctcct ccgtcagtaa ccgtgcgatt	1965
atacaaatta tgtcttccaa agtatggaac actccaatca gaaaaagggt atcatcccg	2024

<210> 2

<211> 547

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide Sequence.

<400> 2

Met Tyr Ser His Asn Val Val Ile Met Asn Leu Asn Asn Leu Asn Leu

1 5 10 15

Thr Gln Val Gln Gln Arg Asn Leu Ile Thr Asn Leu Gln Arg Ser Val

20	25	30
Asp Asp Thr Ser Gln Ala Ile Gln Arg Ile Lys Asn Asp Phe Gln Asn		
35	40	45
Leu Gln Gln Val Phe Leu Gln Ala Lys Lys Asp Thr Asp Trp Leu Lys		
50	55	60
Glu Lys Val Gln Ser Leu Gln Thr Leu Ala Ala Asn Asn Ser Ala Leu		
65	70	75
Ala Lys Ala Asn Asn Asp Thr Leu Glu Asp Met Asn Ser Gln Leu Asn		
85	90	95
Ser Phe Thr Gly Gln Met Glu Asn Ile Thr Thr Ile Ser Gln Ala Asn		
100	105	110
Glu Gln Asn Leu Lys Asp Leu Gln Asp Leu His Lys Asp Ala Glu Asn		
115	120	125
Arg Thr Ala Ile Lys Phe Asn Gln Leu Glu Glu Arg Phe Gln Leu Phe		
130	135	140
Glu Thr Asp Ile Val Asn Ile Ile Ser Asn Ile Ser Tyr Thr Ala His		
145	150	155
His Leu Arg Thr Leu Thr Ser Asn Leu Asn Glu Val Arg Thr Thr Cys		
165	170	175
Thr Asp Thr Leu Thr Lys His Thr Asp Asp Leu Thr Ser Leu Asn Asn		
180	185	190
Thr Leu Ala Asn Ile Arg Leu Asp Ser Val Ser Leu Arg Met Gln Gln		
195	200	205
Asp Leu Met Arg Ser Arg Leu Asp Thr Glu Val Ala Asn Leu Ser Val		
210	215	220
Ile Met Glu Glu Met Lys Leu Val Asp Ser Lys His Gly Gln Leu Ile		
225	230	235
Lys Asn Phe Thr Ile Leu Gln Gly Pro Pro Gly Pro Arg Gly Pro Arg		
245	250	255

Gly Asp Arg Gly Ser Gln Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Asn Lys Gly
 260 265 270

Gln Lys Gly Glu Lys Gly Glu Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Glu
 275 280 285

Arg Gly Pro Ile Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly Glu Arg Gly Gly Lys
 290 295 300

Gly Ser Lys Gly Ser Gln Gly Pro Lys Gly Ser Arg Gly Ser Pro Gly
 305 310 315 320

Lys Pro Gly Pro Gln Gly Pro Ser Gly Asp Pro Gly Pro Pro Gly Pro
 325 330 335

Pro Gly Lys Glu Gly Leu Pro Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Phe Gln
 340 345 350

Gly Leu Gln Gly Thr Val Gly Glu Pro Gly Val Pro Gly Pro Arg Gly
 355 360 365

Leu Pro Gly Leu Pro Gly Val Pro Gly Met Pro Gly Pro Lys Gly Pro
 370 375 380

Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Ala Val Val Pro Leu Ala Leu Gln
 385 390 395 400

Asn Glu Pro Thr Pro Ala Pro Glu Asp Asn Gly Cys Pro Pro His Trp
 405 410 415

Lys Asn Phe Thr Asp Lys Cys Tyr Tyr Phe Ser Val Glu Lys Glu Ile
 420 425 430

Phe Glu Asp Ala Lys Leu Phe Cys Glu Asp Lys Ser Ser His Leu Val
 435 440 445

Phe Ile Asn Thr Arg Glu Glu Gln Gln Trp Ile Lys Lys Gln Met Val
 450 455 460

Gly Arg Glu Ser His Trp Ile Gly Leu Thr Asp Ser Glu Arg Glu Asn
 465 470 475 480

Glu Trp Lys Trp Leu Asp Gly Thr Ser Pro Asp Tyr Lys Asn Trp Lys

485 490 495
 Ala Gly Gln Pro Asp Asn Trp Gly His Gly His Gly Pro Gly Glu Asp
 500 505 510
 Cys Ala Gly Leu Ile Tyr Ala Gly Gln Trp Asn Asp Phe Gln Cys Glu
 515 520 525
 Asp Val Asn Asn Phe Ile Cys Glu Lys Asp Arg Glu Thr Val Leu Ser
 530 535 540
 Ser Ala Leu

545

<210> 3

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Modified Consensus Sequence of collectins Hybridizable with Novel
 Collectin.

<400> 3

Glu Lys Cys Val Glu Met Tyr Thr Asp Gly Lys Trp Asn Asp Arg Asn
 1 5 10 15
 Cys Leu Gln Ser Arg Leu Ala Ile Cys Glu Phe
 20 25

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Reverse Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 4

caatctgatg agaaggtgat g

21

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Forward Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 5

acgaggggct ggatgggaca t

21

<210> 6

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Consensus sequence of three collectins which were reported heretofore.

<400> 6

Glu Asp Cys Val Leu Leu Leu Lys Asn Gly Gln Trp Asn Asp Val Pro

1

5

10

15

Cys Ser Thr Ser His Leu Ala Val Cys Glu Phe

20

25

<210> 7

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> M13 Universal Primer Sequence for Sequencing.

<400> 7

cgacgttgta aaacgacggc cagt

24

<210> 8

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> M13 Reverse Primer Sequence for Sequencing.

<400> 8

caggaaaca gctatgac

17

<210> 9

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a λ gt11 Reverse Primer for Sequencing.

<400> 9

ttgacaccag accaactggt aatg

24

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a λ gt11 Forward Primer for Sequencing.

<400> 10

ggtggcgacg actcctggag cccg

24

<210> 11

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 11
 cgtgaaaatg aatggaagtg g 21
 <210> 12
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Sequence of a Primer for Screening a Novel Collectin.
 <400> 12
 ttttatccat tgctgttcct c 21
 <210> 13
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Sequence of a Primer for Sequencing a Novel Collectin.
 <400> 13
 ctggcagtcc ccgaggtcca g 21
 <210> 14
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Sequence of a Primer for Sequencing a Novel Collectin.
 <400> 14
 gctggtcccc ccggagagcg t 21
 <210> 15
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a 1RC2 Primer for Cap Site Sequencing.

<400> 15

caaggtacgc cacagcgat g

21

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Synthetic TGP1 Primer for Cap Site Sequencing.

<400> 16

tcttcagttt ccctaattccc

20

<210> 17

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a 2RC2 Primer for Cap Site Sequencing.

<400> 17

gtacgccaca gcgtatgatg c

21

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Synthetic TGP2 Primer for Cap Site Sequencing.

<400> 18

cattcttgac aaacttcata g

21

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 19

gaagacaagt cttcaactct tg

22

<210> 20

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 20

ctctgagtct gtgaggccga tc

22

<210> 21

<211> 111

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Probe for Screening a Novel Collectin.

<400> 21

gaagacaagt cttcacatct tgttttcata aacactagag aggaacagca atggataaaa

60

aaacagatgg tagggagaga gagccactgg atcggcctca cagactcaga g

111

<210> 22

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Forward Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 22

gtgccccctgg ccctgcagaa tg

22

<210> 23

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Reverse Primer for Screening a Novel Collectin.

<400> 23

gcatatcacc ctggggaaca ttttag

26

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of a Sense Primer for Screening β -Actin.

<400> 24

caagagatgg ccacggctgc t

21

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of an Antisense Primer for Screening β -Actin.

<400> 25

tccttctgca tcctgtcggc a

【図面の簡単な説明】

【図1】

従来報告されている主なコレクチンの基本構造及びタンパク質の概観を示す図である。

【図2】

従来報告されている3種のコレクチンのアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。

【図3】

図2と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。

【図4】

本発明の新規コレクチンの塩基配列を決定するために使用した各プライマーの名称と、シーケンサーにより読み取られた塩基配列を示す図（b）及び得られたコレクチンのORFを示す図（a）である。

【図5】

従来報告されている3種のコレクチンと、本発明の新規コレクチンのアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。

【図6】

図5と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。

【図7】

本発明の新規コレクチンのゲノミックサザン分析の結果を示す図である。各レーンで使用された制限酵素は、（1）EcoR I、（2）Xba I、（3）Hind III、（4）Pst I、（5）Bgl II及び（6）Bam HIである。

【図8】

本発明の新規コレクチンの臓器分布を示す、ヒトの種々の組織、すなわち、1）脳、（2）心臓、（3）腎臓、（4）脾臓、（5）肝臓、（6）小腸、（7）筋組織、（8）精巣、（9）胎盤、または（10）大腸におけるmRNAの発現分布の分析結果を示す図である。

【図9】

本発明の新規コレクチンの種間での保存性を示す、種々の脊椎動物、すなわち

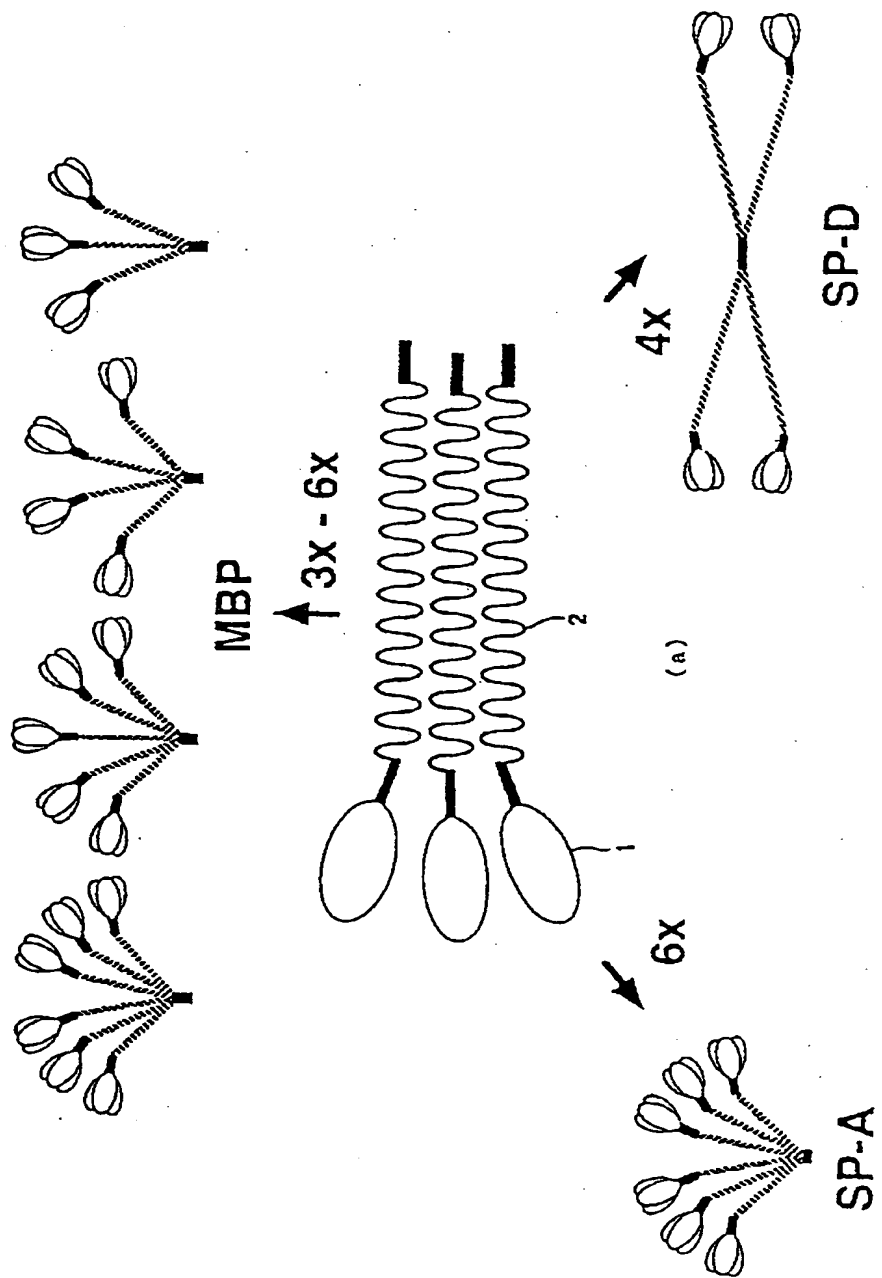
、(1) ヒト、(2) サル、(3) ラット、(4) マウス、(5) イヌ、(6) ウシ、(7) ウサギ及び(8) ニワトリにおけるゲノミックサザン分析の結果を示す図である。

【図10】

種々のコレクションの遺伝的系統樹を示す図である。

【書類名】 図面

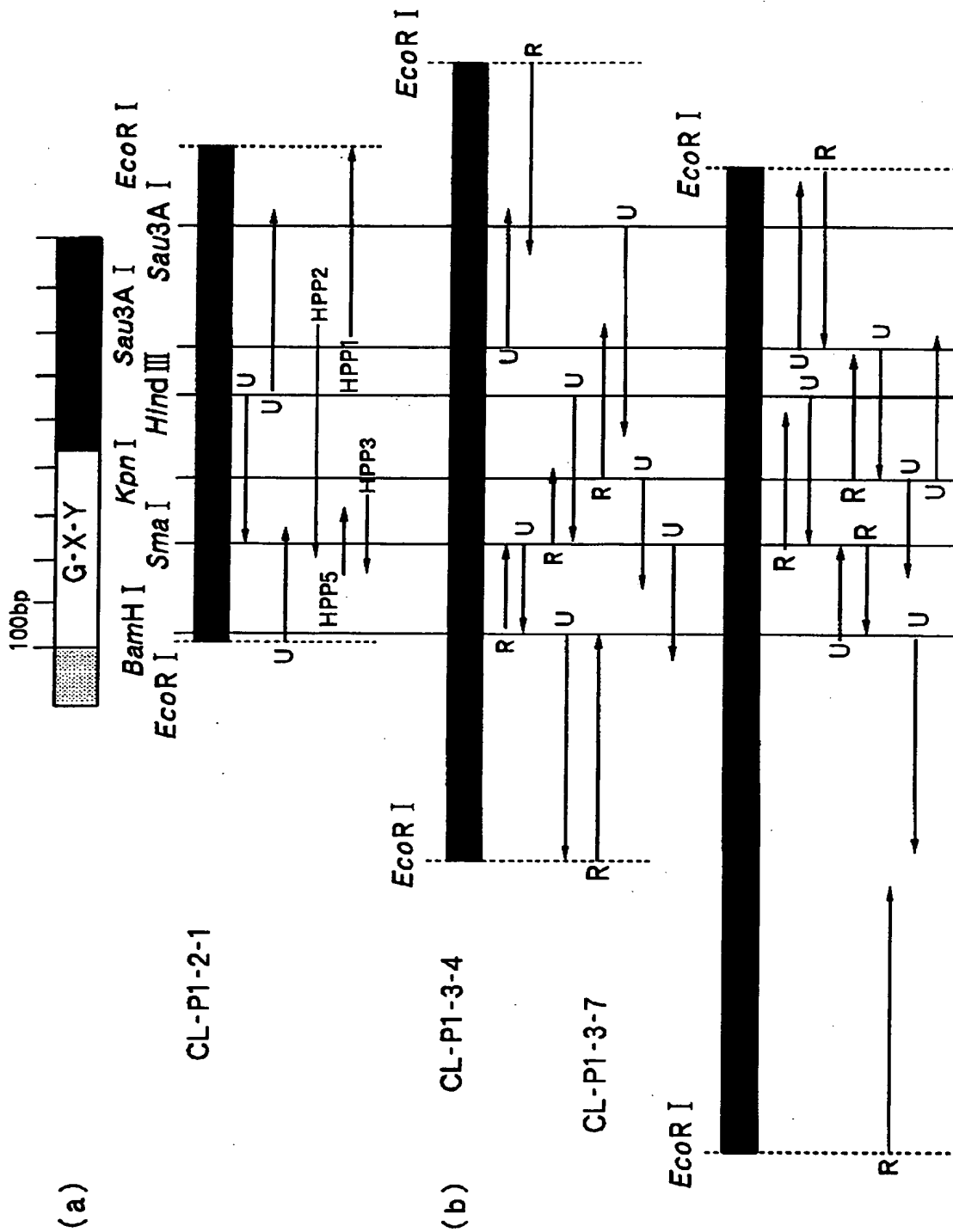
【図 1】



【図 3】

1MBP	GDPG-KSPDGDSSLA	-----SERKALQTEMARIKKWLTFS	SLCKQVGNKFFL	NGEIMTFEKV
1SP-A	--PAHDEELQATLHD	---FRHQLQTRGALS-LQGS	-----MTVGERVFSSNQSI	TFDAI
1SP-D	GIPGDKGAKGESGLPDVASLRQ	QVEALQGVQHLOAAFSQYKKVELE	PNQGSVGERIFK	ITAGFVKPFTEA 280
	KALCVKFQASVATPRNAAENGAIQNL	LI---KEEAFLGITDEKTEGQFVD	LIGNRLTYTNWNE	GEPNNAGS
	QACARAGGRIAMP	RNPENEAIASFVKKYNTYAYVGL	TEGSPGDFRYS	SDGTPVNTNWRGEPAGRG-
	QLLCTQAGGQLASPRSAENAL	QQLVAKNEAFLSMIDSKTEGFI	TYPIGESLVYSNWA	PQEPNDDGG 350
	DEDCVLLKNGQWNDVPC	STSHLAVCEFP	I*	
	KEQCVEMYTDGQWDRNCL	YSRLTICEF	*--	
	SEDCVEIFNCKWDRAC	GEKRLVCEF	*--	

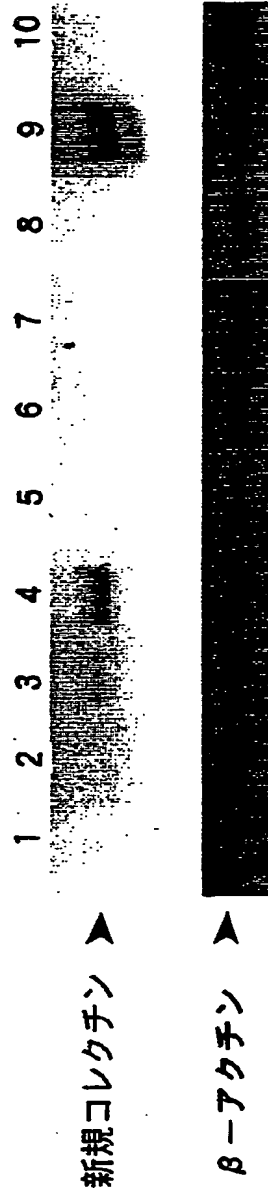
【図 4】



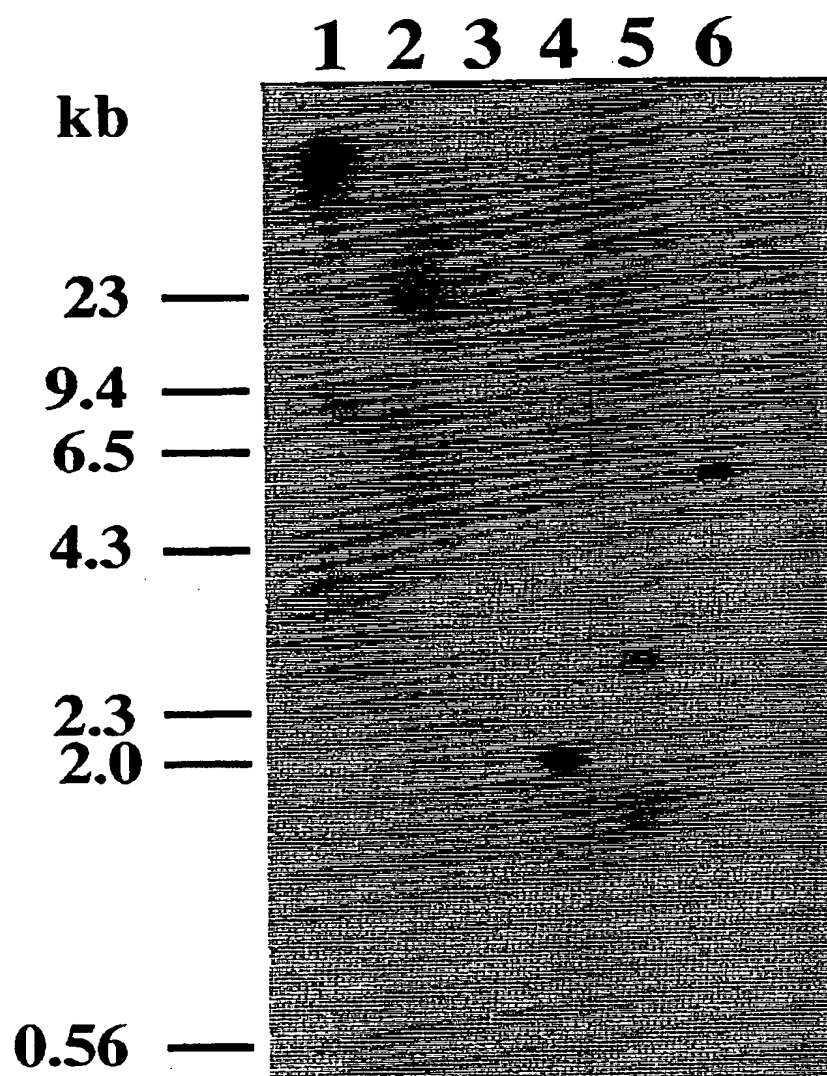
【図 6】

1 MBP	CSGKQKQKGDPCSPDG-----DSSLASERKALQTEMARIKKWLTFSLG-KQVGNKFFLTNGEIMTFEK	280
1 SP-A	GEAGERGH-----PGLPA-----HLDEELQATLHDFRHOILQTRGALSLOGSIMTVGEKVFSSNGQSITEDA	
1 SP-D	GIKGDKGAKEGSLPDVASLRQQVEALQQVQVHLQAAFSQYKKVELFENG-QSVGEKIFKTAGFVKPTE	
1 新規	EPGCHPGE-----SCAVVPLALQNEPTPEPEDNGC-----EPHWNFTDKCYVFSVEKEIFEID	
		280
	VKALQVKFQASVATPRNAENGALQNLI---KEEAFLEITDEKTEGQFVDITENRLTYTNWNEEENN---	
	IOEAQARAGGRIAVPRNPEENEALASFVKKYNITYAVVGLTEGSPSPGDFRYS DGT PVNNTNMYRCGEAG---	
	ZQLLTQAGGQLASPRSAENNAALQQLVMIAKNEAAFLSMIDSKTEGKFTYPTCESLVMSNMAPCEEND---	
	AKLFIEDKSSHVFINTREEQQWIKKQMG-RESHWIGLITDSERENENKWL DGTSPDKKWKACQEDNWG	350
	--ACSEDEQVLLKNGOWNLVPCSTSHLAVCEFFPI*-----	
	--RC-KEQCVEMYTDGOWNDRNCLYSRLTIQDF*-----	
	--DGSEDEQVEIFTNCKWNDRACGEKRLVVCFF*-----	
	HGHCPCGDCAGLIYAGOWNLFQCEDEVNFI CEKDRETVLSAL*	

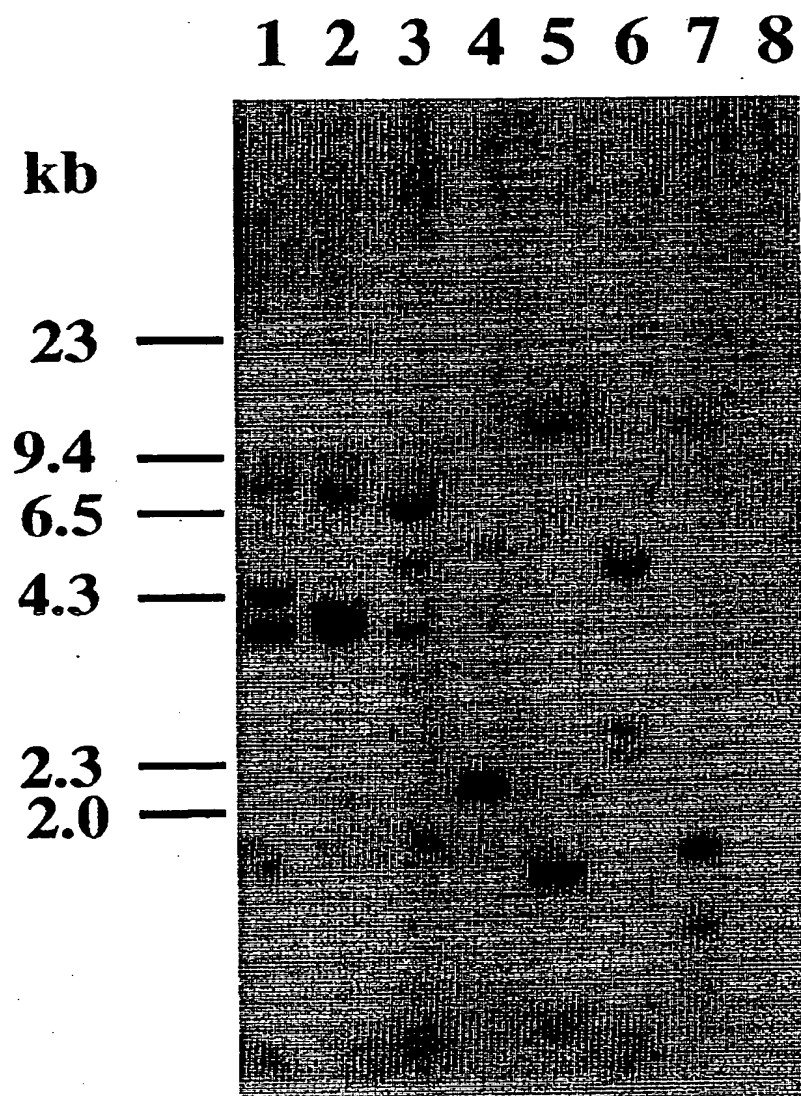
【図 7】



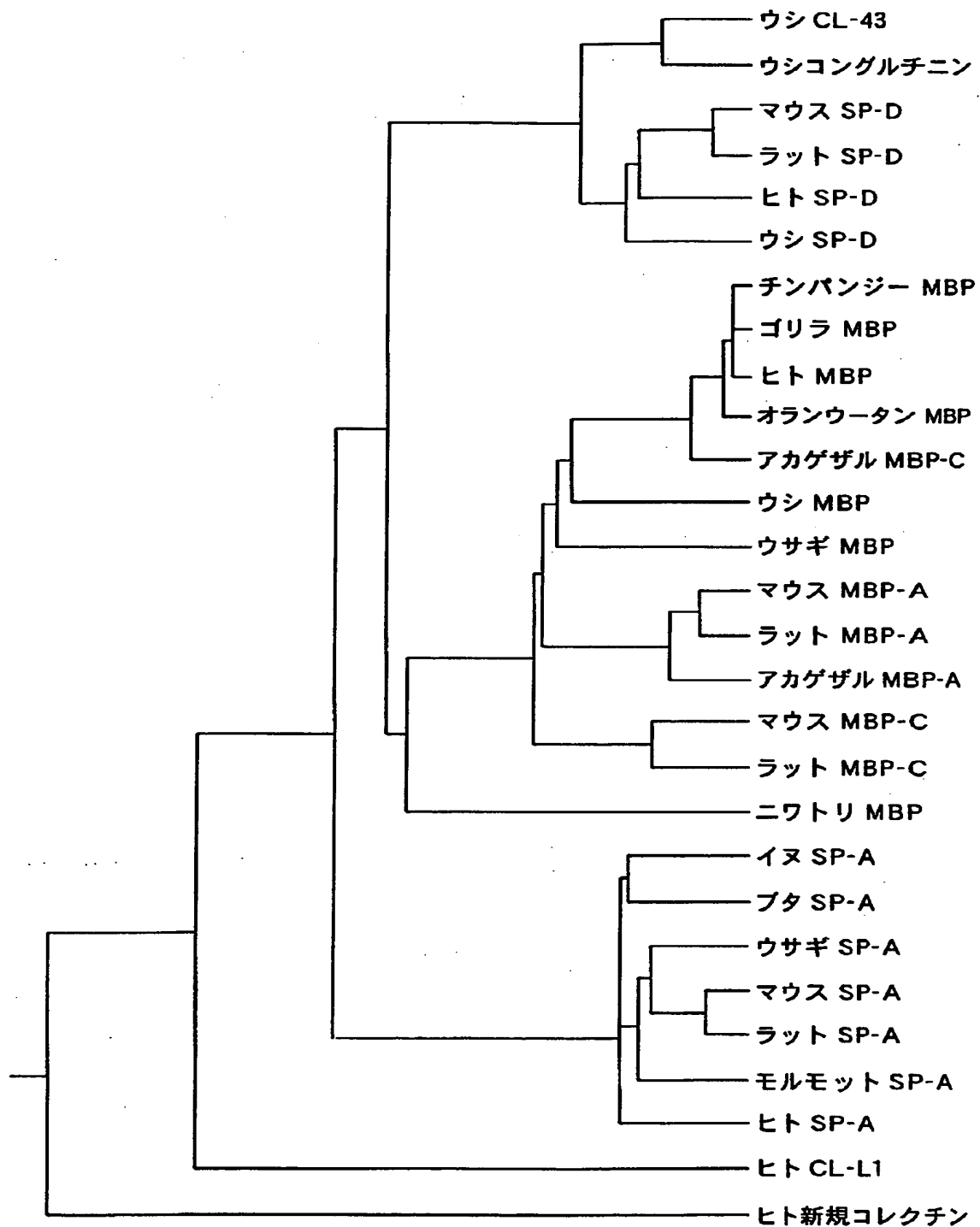
【図8】



【図9】



【図10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 特にヒトの体内で抗細菌、ウイルス活性などを発揮することが期待される新規コレクチンを提供する。

【解決手段】 配列番号：1で示される塩基配列を含むコレクチン遺伝子、及び配列番号：2で示されるアミノ酸配列を含むコレクチンタンパク質。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
 【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】
 【識別番号】 000238201
 【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番10号
 【氏名又は名称】 扶桑薬品工業株式会社
 【代理人】 申請人
 【識別番号】 100065868
 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル
 3階 有古特許事務所
 【氏名又は名称】 角田 嘉宏
 【選任した代理人】
 【識別番号】 100088960
 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル3
 階 有古特許事務所
 【氏名又は名称】 高石 ▲さとり▼
 【選任した代理人】
 【識別番号】 100106242
 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル
 3階 有古特許事務所
 【氏名又は名称】 古川 安航
 【選任した代理人】
 【識別番号】 100107940
 【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル
 3階 有古特許事務所
 【氏名又は名称】 岡 憲吾

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000238201]

1. 変更年月日 1990年 8月 8日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番10号

氏 名 扶桑薬品工業株式会社